Aus der I. Medizinischen Klinik der Charité Berlin.
Direktor: Professor Dr. R. Siebeck.

Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Azetylcholins

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des medizinischen Doktorgrades an der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

vorgelegt von

Walter Musehold

aus Berlin

Tag der Promotion: 6. November 1939

1939

Dr. Emil Ebering, Berlin SW 68, Ritterstr. 77/78.

M 296

Gedruckt mit Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Berlin

Dekan: Prof. Kreuz
Referent: Prof. Dr. R. Siebeck

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

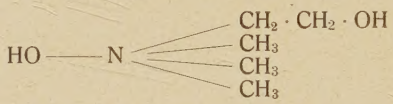
Meinen Eltern

gewidmet

Einleitung.

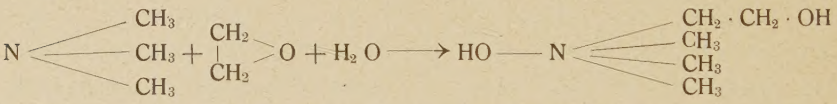
Das Cholin und sein Derivat Azetylcholin, von denen wir heute wissen, daß sie im tierischen Organismus äußerst wichtige Funktionen zu erfüllen haben, ist in seinen physiologischen Funktionen um das Jahr 1870 bekannt geworden. Es wurde 1862 von Strecker entdeckt; die erste Synthese des Azetylcholins führte im Jahre 1867 Baeyer durch. Aber erst 1906 wurden Hunt und Taveau durch ihre Versuche über die in der Nebenniere vermuteten Cholinester erneut auf ihre Bedeutung aufmerksam. Die beiden Autoren konnten schon damals nachweisen, daß der Wirkungsgrad des Azetylcholins den des Cholins ungefähr 100 000-mal übertraf, und außerdem beobachteten sie eine ausgesprochene blutdrucksenkende Wirkung bei Gaben von Cholin und Azetylcholin. Hunt sah jedoch diesen Effekt nicht als parasympathisch bedingt an, sondern er führte die Blutdrucksenkung auf eine Schwächung des Herzens zurück und sagte nichts über die Gefäßwirkung dieser Stoffe aus. Dale, der sich ein besonderes Verdienst um die Erforschung dieser chemischen Körperklassen erworben hat, zog die richtige Schlußfolgerung, daß die Wirksamkeit dieser Stoffe parasympathisch bedingt ist, d. h. durch Reizung des Parasympathikus tritt eine allgemeine Erweiterung der Gefäße, besonders aber der Kapillaren auf, so daß sich daraus eine Herabsetzung des Blutdrucks ergibt. Hunt arbeitete 1915 ein Verfahren aus, das es ermöglicht, kleinste Cholinmengen nachzuweisen. Die zu untersuchende Substanz wird nach seiner Methode azetyliert und anschließend der Prüfung am überlebenden Meerschweinchendarm unterzogen. Fast gleichzeitig gaben Guggenheim und Löffler ohne Kenntnis der Huntschen Versuche ein ähnliches Verfahren an. In ihren Arbeiten heben sie besonders hervor, daß die Cholingruppe als das stärkste bisher bekannte Erregungsmittel des Parasympathikus zu gelten hat.

Das Cholin gehört zu den stickstoffhaltigen Basen. Wegen seiner Reaktion, die der alkalischer Substanzen entspricht, gehört es in die große Gruppe der Alkaloide und wegen seines Vorkommens im tierischen Organismus ist es das einzige tierische Alkaloid, was wir kennen. In seiner chemischen Konstitution leitet es sich einerseits von einem 2-wertigen Alkohol, dem Glykol, andererseits von einem Derivat des Ammoniaks, dem Trimethylamin, ab.

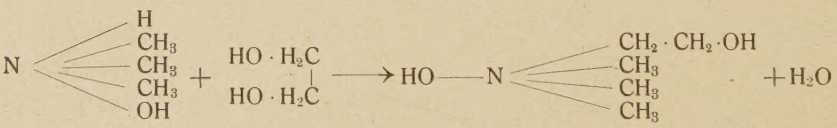


Auf Grund dieser Konstitutionsaufklärung war es möglich, aus den einzelnen Komponenten die freie Base Cholin zu resynthetisieren. Von den Synthesen sind die wichtigsten:

1. die von W u r t z : aus Trimethylamin, Äthylenoxyd und Wasser:



2. die aus Trimethylammoniumhydroxyd und Glykol:



Das Cholin ist als stickstoffhaltige Base an dem Molekülaufbau des Lezithins beteiligt. Es ist deshalb möglich, durch gewisse Abbauprozesse das Cholin vom Molekül des Lezithins zu trennen. Mit Alkalien oder Barytwasser kann man in einem wässerigen Milieu das Lezithin in zwei Moleküle Fettsäure und je ein Molekül Cholin und Glyzerylphosphorsäure spalten. Auf diesem Wege ist also eine weitere Cholindarstellung möglich.

Reines Cholin stellt normalerweise eine alkalisch reagierende, sirupöse Flüssigkeit dar; unter entsprechenden Bedingungen kann es auch kristallin erhalten werden. Wegen seines stark hygroskopischen Charakters zerfließt es an der Luft aber sehr schnell. Eine optische Aktivität des Cholins gibt es nicht, da es kein asymmetrisches Kohlenstoffatom enthält. In Alkohol und Wasser kann

Cholin bis zu einem hohen Prozentsatz gelöst werden, in Äther und Chloroform hingegen ist es unlöslich. Beim Erhitzen der freien Base findet eine sofortige Zersetzung in Trimethylamin, Äthylenoxyd und Wasser statt. Andererseits spaltet sich das Molekül einer konzentrierten Cholinlösung beim Kochen in Glykol und Trimethylamin auf. Wesentlich beständiger gegen Kochen ist eine wässerig verdünnte Lösung.

Wie schon erwähnt, bildet Cholin als Base mit Salzsäure ein in Wasser leicht lösliches Cholinchlorid, das aber in Äther und Benzol unlöslich ist. Dieses Salz hat die Eigenschaft, mit Platin, Gold und Quecksilber Doppelverbindungen einzugehen, die sich untereinander durch ihre Löslichkeit in Wasser und Alkohol unterscheiden, und außerdem differieren sie im Schmelzpunkt. Die Doppelverbindung mit Quecksilber ist schwerlöslich in heißem Wasser, während das Gold-Komplexsalz in Wasser sowie in Alkohol leicht löslich ist. Diese Eigenschaft hat man sich im chemischen Nachweis von Cholin zunutze gemacht. Der biologische Nachweis ist diesen Methoden jedoch an Empfindlichkeit weitgehend überlegen.

Ein physiologisch wichtiges Derivat ist das Azetylcholin, das chemisch durch Verestung des Cholins mit Essigsäure entsteht. Die einfachste Herstellungsmethode beruht darauf, daß Cholin mit Azetylchlorid in zugeschmolzenen Röhrchen mehrere Stunden unter Ausschluß von Wasser erhitzt wird. In Gegenwart von Wasser würde Azetylcholin wieder sehr leicht in seine ursprünglichen Komponenten zerfallen, ebenso durch Mineralsäuren, genau wie bei jeder anderen Verseifung eines Esters. Das Maximum seiner Haltbarkeit ist von einem bestimmten pH-Wert abhängig, und zwar liegt er bei 3,9. Die Salze des Azetylcholins sind ähnlich denen des Cholins haltbarer und verändern die physiologische und pharmakologische Wirkung nicht.

Das Cholin ist im Tier- und Pflanzenreich weit verbreitet. Es ist aus Galle, Gehirn, Blut, Darm und aus der Zerebrospinalflüssigkeit isoliert worden. Eine gangbare Methode, Cholin mit guter Ausbeute aus organischem Material herzustellen, ist die Extraktion aus Eidotter mit Ätheralkohol, woraus anschließend durch Kochen mit Barytwasser das Cholin gewonnen werden kann.

In physiologischer Hinsicht hat das Cholin und damit das Azetylcholin eine ausgesprochen spezifische Wirkung, und zwar faßt man es als Hormon des Dickdarms auf. Aller Wahrscheinlichkeit nach wird es in der Dickdarmwand selbst gebildet und gleicherzeit dort seinem Erfolgsorgan zugeführt. Die Dickdarmperistaltik ist von der Anwesenheit des Cholins direkt abhängig. Eine intensivere Wirkung zeigt das Azetylcholin, d. h. man erzielt mit einer geringeren Menge von Azetylcholin die gleiche Wirkung wie mit Cholin. Die Wirkung von Azetylcholin führt man auf Grund entsprechender experimenteller Untersuchungen auf seine leichte Spaltbarkeit im Organismus zurück und glaubt für die Verseifung des Azetylcholins, d. h. für den Zerfall ein bestimmtes Ferment, die sogenannte Esterase, verantwortlich machen zu können. Der Vorgang des Zerfalles an sich ist das auslösende Moment für seinen Wirkungsgrad. Diese Schlußfolgerung ist jedoch nicht so aufzufassen, daß dem Cholin, welches beim Zerfall von Azetylcholin entsteht, keine parasympathische Wirkung zukommt, sondern bei wirksamen Azetylcholindosen wird durch den Zerfall eine zu geringe Menge von Cholin frei, die nicht genügt, seine Wirkungsschwelle zu erreichen.

Das Cholin übt eine spezifische Wirkung auf das vegetative Nervensystem aus, und zwar ist es ein Reizer des Parasympathikus. Von den verschiedenen Wirkungsqualitäten bei Parasympathikusreizung sind besonders die Verlangsamung der Herzschlagfrequenz, die Gefäßerweiterung und damit Blutdrucksenkung und die Förderung der Peristaltik der gesamten glatten Muskulatur hervorzuheben. Die flüchtige Wirkung des Cholins läßt aber eine therapeutische Anwendung nicht zu. Die Wirkung auf den Parasympathikus hat man sich im physiologischen Nachweis dieses Stoffes zunutze gemacht. So eignet sich dazu am besten die Wirkung auf den Froschrektus, -gastronemicus und auf den Meerschweinchendarm. Ein Wirkungsmaximum des Cholins und des Azetylcholins gibt es nur bis zu einem gewissen Grade, denn bei Überschreitung der Reizschwelle in der Dosierung ist die Wirkung immer die gleiche. Es ist also vollkommen gleichgültig, ob die 100fache Menge der schon wirksamen Dosis gegeben wird. Gestützt wird diese Tatsache im wesentlichen auf Beobachtungen experimenteller Forschung über den Blutdruck.

Zur gleichen pharmakologisch wirkenden Körperklasse gehören außerdem das Muskarin, das Pilokarpin und das Physostigmin. Wie oben erwähnt, ist die flüchtige Wirkung des Azetylcholins auf die schnelle Zerstörbarkeit (Verseifung), gefördert durch die Esterase, zurückzuführen. Dieser Vorgang ist nur möglich, weil der Essigsäureester des Cholins an sich schon leicht zerstörbar ist und durch fermentative Wirkung noch gesteigert werden kann. Eine längere Verseifungszeit kann daher auf zwei verschiedene Arten erhalten werden. Die erste Möglichkeit in dieser Hinsicht erfordert vom Cholin eine Esterbildung mit anderen organischen Säuren, die an sich beständiger, schwerer zerstörbar und damit für die Esterase schwerer angreifbar sind („Doryl", „Lentin"). Zweitens wäre durch Lähmung der Esterase eine längere Wirkungszeit möglich. Diese Eigenschaft soll dem Physostigmin zukommen, wie noch später ausgeführt werden wird.

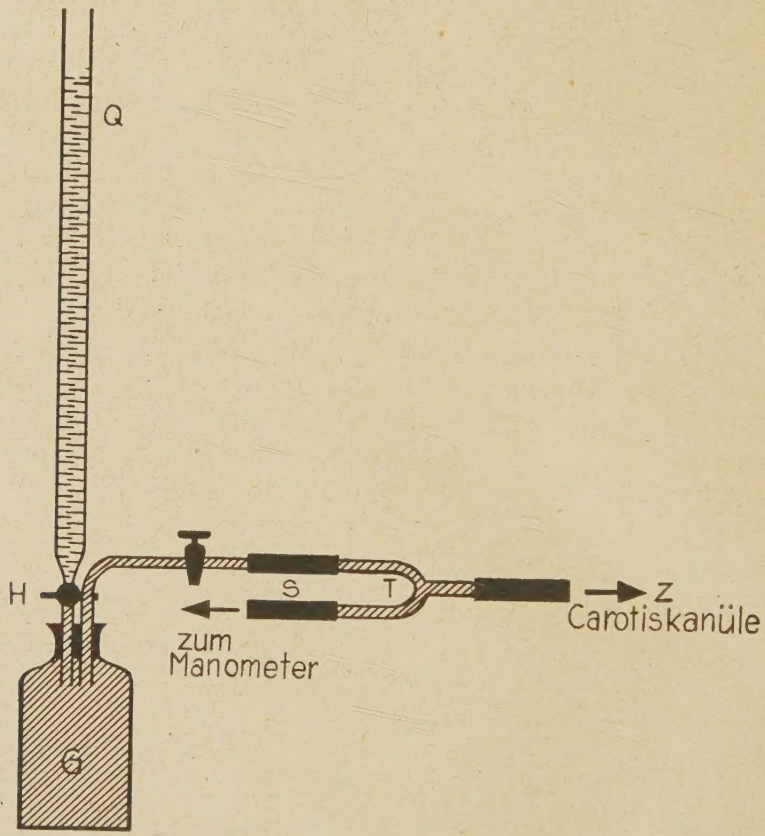
Als Antagonist des Cholins müssen das Adrenalin und dessen Derivate als Sympathikusreizer angesehen werden. Demnach muß die Cholinwirkung durch Adrenalin aufgehoben werden, andererseits müssen entsprechend dem Adrenalin in gleicher Richtung parasympathikushemmende Mittel wie Atropin wirken.

Methodik.

Die folgenden Versuche wurden an 2 bis 3 kg schweren Katzen nach der Methode der Trendelenburgschen Gegenstrominfusion durchgeführt. Als Narkose diente intramuskulär injizierte Chloralose mit einem Zusatz von Urethan. Um eine genügend tiefe Narkose zu erzielen, benötigt man pro kg Tiergewicht 0,075 g Chloralose und 0,25 g Urethan. Letzteres dient zur Herabdrückung der Erregbarkeit und Krampfbereitschaft des Tieres, die nach ausschließlicher Chloralose-Narkose sehr störend wirken.

In eine Art. Carotis communis des Tieres wird eine Glaskanüle eingebunden, die durch den Schlauch S mit dem U-förmig gebogenen Quecksilber-Manometer verbunden ist. Der Schwimmer in dem freien Schenkel registriert vermittels eines Zeigers die Blutdruckschwankungen auf einem Kymographion. Von dem Schlauch S gestattet die Ableitung durch ein T-Stück T eine Verbindung mit dem Trendelenburgschen Gegenstromapparat. Dieser ist

so angeordnet, daß aus der Säule Q durch den Hahn H, der eine äußerste Feineinstellung erlaubt, ein feiner Quecksilberstrom in das Gefäß G fließen kann, so daß die über dem Quecksilber stehende Natriumlösung im Gegenstrom zum Tier gedrückt wird. Der Aufbau der Apparatur bietet neben der Reinerhaltung der Füll-



flüssigkeit (da durch Infundieren des Blutes eine Verschmutzung eintreten würde), noch den Vorteil, daß vor Versuchsbeginn in dem Manometer ein dem ungefähren Blutdruck der Katze entsprechender Druck vorgelegt werden kann, um eine Belastung des tierischen Kreislaufes beim plötzlichen Öffnen der Carotis zu verhindern, die im Augenblick der Einstellung des Blutdrucks vom Nullpunkt zur jeweiligen Blutdruckhöhe des Versuchstieres entstehen würde.

Erfahrungsgemäß findet in der Glaskanüle häufig eine Thrombenbildung statt, die einen ungestörten Verlauf des Versuches rein zeitlich stark beeinflußt. Neben der Füllung des Trendelenburgschen Apparates mit einer 3,8prozentigen Natriumcitrat-Lösung wird diesem Übelstand am besten dadurch abgeholten, daß nach der Operation dem Tier 2 ccm V e t r e n (Fa. Promonta, Hamburg) intravenös injiziert werden, die für etwa 2 Stunden die Gerinnungsfähigkeit des Blutes weitgehend herabsetzen.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob die Nachwirkungszeit (NWZ) bei Azetylcholin-Dauerinfusionen von der Konzentration des zugeführten Azethylcholins abhängig ist. Zweitens wurden gleichzeitig mit Azetylcholin geringe Physostigminmengen infundiert, um dadurch die NWZ im Sinne einer Verlängerung zu beeinflussen.

V e r s u c h s e r g e b n i s s e.

Es wurden zuerst bei verschiedenen Konzentrationen von Azetylcholin Dauerinfusionen durchgeführt und aus den entstandenen Kurven die Wirkungsverhältnisse nach Absetzen der Infusion beobachtet. Wie Tabelle 1 angibt, wurde mit der Konzentration 1γ/Min. begonnen und fortlaufend bis auf 100γ/Min. gesteigert. Die Infusionszeit war bei den verschiedenen Konzentrationen nicht gleich, sondern variierte zwischen 5 und 25 Minuten. Selbst bei dem großen Unterschied in der Konzentration von 1γ bis 100 γ Azetylcholin pro Minute bestand keine wesentliche Differenz in der NWZ. Die längste Nachwirkungszeit in der ersten Versuchsserie (siehe Tabelle 1) wurde bei 2γ und 10γ/Min. Azetylcholin, Infusionszeit 16 Minuten, beobachtet. Sie betrug in allen drei Fällen 2 Minuten. Als durchschnittliche NWZ von 12 Dauerinfusionen verschiedener Konzentration und Infusionszeit konnte 1 Minute 25 Sekunden errechnet werden. Danach kann angenommen werden, daß die NWZ von der Konzentration unabhängig ist. Diese Behauptung gründet sich außerdem auf die Beobachtung, daß bei größeren Konzentrationen gegenüber geringeren in der gleichen Versuchsserie die NWZ kürzer war; denn diese betrug z. B. bei 100γ/Min. 1 Minuten 20 Sekunden; bei 2γ/Min. 2 Minuten.

Das Maximum der NWZ war also nicht bei der größten Konzentration vorhanden.

Tabelle 1.

Azetylcholin-Konzentration in γ/Min.	Dauer der Infusion in Min.	Sek.	Gesamt-Azetylcholin-menge in γ	Blutdruck-senkung in mm Hg	Nachwirkungszeit in Min.	Sek.
1	20	40	20,33	30	1	20
2	25		50	44	2	—
4	20		80	50	1	50
5	18		90	52	1	30
10	20		200	58	2	—
20	16		320	60	2	—
40	5		200	70	1	20
45	10		450	70	—	40
50	12		600	50	—	50
60	10		600	70	1	20
80	6		480	70	1	—
100	8		800	75	1	20

In der nächsten Versuchsserie wurde die Konzentration des Azetylcholins konstant gehalten (20γ/Min.), während die Infusionszeit von 5 auf 30 Minuten gesteigert wurde. Auch hier verhielt sich die NWZ ziemlich konstant. Bei 20γ/Min., Infusionszeit 25 und 30 Minuten, überschritt die NWZ die 2-Minuten-Grenze und betrug 2 Minuten 20 Sekunden und 2 Minuten 10 Sekunden (Tabelle 2).

Tabelle 2.

Azetylcholin-Konzentration in γ/Min.	Dauer der Infusion in Min.	Sek.	Gesamt-Azetylcholin-menge in γ	Blutdruck-senkung in mm Hg	Nachwirkungszeit in Min.	Sek.
20	5	—	100	60	1	10
20	10	—	200	70	1	10
20	15	—	300	60	1	—
20	20	—	400	70	1	50
20	25	—	500	64	2	20
20	30	—	600	60	2	10

Die NWZ verhielt sich also bei gleichbleibender Konzentration aber verschiedener Infusionszeit ähnlich wie bei verschiedener Konzentration von Azetylcholin.

Der Durchschnittswert der NWZ der ersten Versuchsserie, verglichen mit dem der zweiten, war fast gleich. Hier betrug er 1 Minute 20 Sekunden. Eine Abhängigkeit der NWZ von der Infusionszeit bei gleichbleibender Konzentration konnte nicht bestätigt werden.

Die dritte Versuchsserie (Tabelle 3) zeigt bei einer Konzentration von 4,5γ/Min. Azetylcholin und verschiedener Infusionszeit ähnliche Verhältnisse wie Tabelle 2. Der Durchschnittswert betrug 1 Minute.

Tabelle 3.

Azetylcholin-Konzentration in γ/Min.	Dauer der Infusion in		Gesamt-Azetylcholin-menge in γ	Blutdruck-senkung in mm Hg	Nachwirkungszeit in	
	Min.	Sek.			Min.	Sek.
4,5	7	18	33,1	75	1	20
4,5	6	48	30,6	45	—	55
4,5	7	—	31,5	50	1	05
4,5	8	21	37,5	50	1	—

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die NWZ von Azetylcholin durch Konzentrationssteigerung oder andererseits durch Steigerung der Infusionszeit bei gleichbleibender Konzentration nicht zu beeinflussen ist.

Diese Beobachtung erfordert einen Vergleich mit den Messungen bei Einzelinjektionen. Auch hier konnte eine längere Wirkung durch steigende Konzentrationen nicht erreicht werden. Bei Einzelinjektionen von Azetylcholin ist der Wirkungscharakter durchaus flüchtig. Nach der sich sofort nach der Injektion einstellenden Blutdrucksenkung erfolgt innerhalb einer kurzen Zeit die Einstellung zur normalen Blutdruckhöhe. Die Zeitspanne vom tiefsten Punkt der Senkung bis zum Wiedererreichen der Ausgangshöhe bewegte sich um 1 Minute. Selbst geringe Konzentrationen wie 0,5γ nehmen diesen Wert an (Tabelle 4).

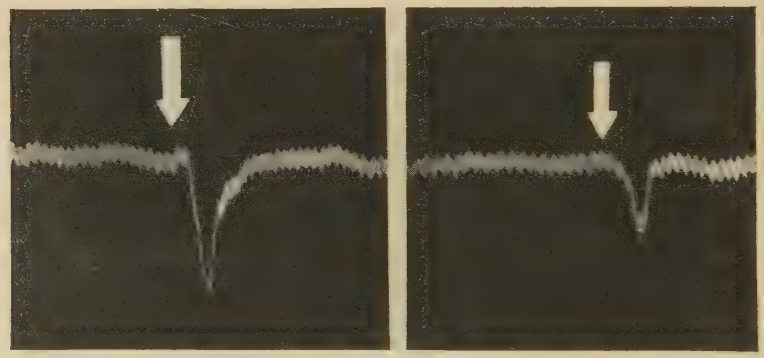
Tabelle 4.

Azetylcholin-Konzentration in γ	Dauer der Blutdrucksenkung		Azetylcholin-Konzentration in γ	Dauer der Blutdrucksenkung	
	Min.	Sek.		Min.	Sek.
0,5	—	58	1,0	—	56
0,5	—	55	5,0	1	—
0,5	—	50	10,0	1	18
1,0	1	—	20,0	1	15

Um die Beeinflußbarkeit der Azetylcholinwirkung in bezug auf den Blutdruck durch andere Pharmaka zu studieren, ist es notwendig, die Art der Wirkung der einzelnen Pharmaka auf den Blutdruck zu prüfen. Das bekannteste Hemmungsmittel der Cholinesterase ist das Physostigmin. Es wurden deshalb Einzelinjektionen und Dauerinfusionen mit Physostigmin durchgeführt. Es hat

sich gezeigt, daß geringe Konzentrationen wie 1γ Physostigmin eine zwar flüchtige aber deutliche Blutdrucksenkung hervorrufen. Diese Senkung ist aber wesentlich unterschieden von der durch Azetylcholin hervorgerufenen. Das Senkungsniveau ist ein tieferes, deshalb braucht der Blutdruck etwas längere Zeit, um sich auf das Anfangsniveau wieder einzustellen. Die Konzentration scheint beim Physostigmin keinen Einfluß auf die Wirkungszeit zu haben.

Weiterhin wurde versucht, die NWZ durch das Esterasehemmungsmittel Physostigmin bei gleichzeitiger Infusion mit Azetylcholin zu verlängern. Die Physostigmindosen wurden möglichst niedrig gehalten. Zu diesem Zweck wurde eine Dauerinfusion mit einer konstanten Azetylcholindosis, deren isolierte Wirkung und Nachwirkungszeit man durch entsprechende Vorversuche genau kannte, durchgeführt.



Die Konzentration des Azetylcholins betrug bei den Kombinationsversuchen 10γ/Min. Bei 10γ Azetylcholin und 10γ Physostigmin pro Minute, Infusionszeit 8 Minuten 15 Sekunden, unterschied sich die NWZ nicht von der üblich zu erwartenden. Sie betrug in diesem Falle 56 Sekunden. Der Blutdruck war um 75 mm Hg gesenkt. Insgesamt wurden während dieser Zeit 80γ Physostigmin zugeführt. Die erste merkliche Verlängerung der NWZ konnte bei 36,4γ/Min. Physostigmin (2 Minuten 36 Sekunden Infusionszeit) beobachtet werden. Sie betrug hier 2 Minuten 49 Sekunden. Bei 57,6γ/Min. Physostigmin, Infusionszeit 2 Minuten 36 Sekunden, war die NWZ 3 Minuten 12 Sekunden. Die zugeführte Physostigminmenge betrug 150γ. Bei einer Dauerinfusion von län-

gerer Infusionszeit (8 Minuten 7 Sekunden) betrug die NWZ 6 Minuten 5 Sekunden. 400γ Physostigmin wurden während dieser Infusion zugeführt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Der Wirkungsmechanismus des Azetylcholins wird nach dem Straub schen Potentialwirkungsgesetz erklärt. Die Spaltung des Azetylcholins in Cholin und Essigsäure wird durch die Cholinesterase bewirkt.

Bei Reizung des N. Vagus wird an den Nervenendigungen Azetylcholin frei, wodurch ein Zustrom von Azetylcholin zur Zelle hin stattfindet. Die dauernde Zerstörung vermittels der Cholinesterase erzeugt ein Potentialgefälle, welches gleich Null wird, wenn Zustrom und Zerstörung sich das Gleichgewicht halten; damit erlischt auch die Wirkung. Dieses Potentialgefälle wird durch die Esterase gesteuert, d. h. bei einem andauerndem Zustrom von Azetylcholin wird durch die Esterase über die Zerstörung die Wirkung aufrechterhalten. Bei kleinen Azetylcholinmengen tritt wohl eine Verseifung ein, deren geringer Wirkungsgrad aber nicht ausreicht, eine Blutdrucksenkung hervorzurufen, d. h. die Wirkungsschwelle des Azetylcholins wird nicht erreicht. Nach den Arbeiten von Zinnitz und Gremels liegt diese Wirkungsschwelle bei 0,01γ/Sek. und erreicht ihr Maximum bei 0,1γ/Sek. oder 7 bis 10γ/Min.

Die Hauptwirkung der Potentialgifte, also auch des Azetylcholins, fällt in die Einmarschphase des Wirkungsstoffes, während nach erfolgter Absättigung der Zelle mit dem Gift dieses keine Wirkung mehr hervorbringen kann. Das ruhende Gift führt zu einer Zustandsänderung des Substrats und damit zu einer veränderten Erregbarkeit der Zelle.

Die Versuche über die Nachwirkungszeit haben gezeigt, daß diese bei verschiedenen Konzentrationen nahezu konstant ist. Bei den durchgeführten Dauerinfusionen muß als durchschnittliche NWZ die 2-Minuten-Grenze angesehen werden. Wird die Konzentration gleich gehalten, dagegen die Infusionszeit variiert, so bewegt sich die NWZ ebenfalls innerhalb der angegebenen Zeit.

Während Zinnitz und Gremels die Nachwirkungszeit von der Konzentration abhängig machen, konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden. Eine NWZ von 3 Minuten und darüber hinaus wurde in unseren Versuchen nicht beobachtet; dagegen wurde bei einigen hohen Konzentrationen eine kürzere NWZ festgestellt, als bei geringeren. Es besteht keine proportionale Steigerung bei höheren Konzentrationen gegenüber geringeren. Die Gesamtmenge des zugeführten Azetylcholins hat also keinen Einfluß auf die Nachwirkungszeit.

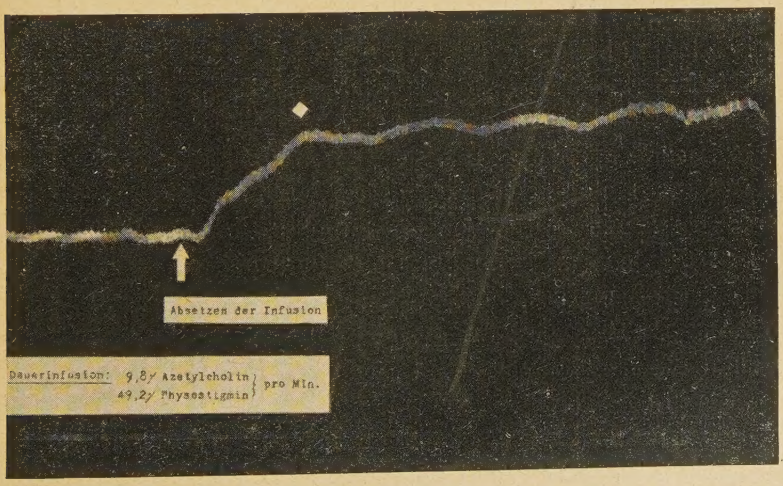
Durch eine Dauerinfusion von Azetylcholin kann oberhalb der Wirkungsschwelle eine Dauersenkung des Blutdrucks erzielt werden. Unterhalb des Wirkungsmaximums liegende Azetylcholinmengen rufen bei Steigerung der Konzentration eine stärkere Blutdrucksenkung hervor; oberhalb des Wirkungsmaximums liegende Azetylcholinmengen bewirken maximale Blutdrucksenkung, dagegen keine Verlängerung der NWZ.

Da die vorhergehenden Versuche die Unbeeinflußbarkeit der NWZ durch Konzentrationserhöhung gezeigt haben, kann angenommen werden, daß beim Wirkungsmaximum die Zelle einen gewissen Sättigungsgrad durch das Azetylcholin erreicht hat. Die darüber hinaus noch vorhandene Menge wird durch die Cholinesterase zerstört, hat jedoch nicht die Möglichkeit, auf die Zelle einzuwirken, da diese nur imstande ist, die Maximaldosis zu verarbeiten. Aus diesem Grunde tritt keine Erhöhung der Wirkungsintensität ein. Es ist deshalb im Augenblick des Absetzens der Dauerinfusion trotz übermäßiger Zufuhr kein wirkungsfähiges Azetylcholin mehr vorhanden. Dafür spricht die konstante NWZ. Im anderen Falle müßte die Nachwirkungszeit nach Erhöhung der Konzentration oberhalb des Wirkungsmaximums proportional der Zufuhr ansteigen.

Wenn die Cholinesterase durch Physostigmin gelähmt ist, muß sich bei Azetylcholindauerinfusionen eine verlängerte NWZ ergeben. Es findet auch unter Physostigminisierung eine Spaltung des Azetylcholins in Cholin und Essigsäure statt, die aber zeitlich langsamer verläuft. Daher ist beim Absetzen der Dauerinfusion noch ungespaltenes Azetylcholin vorhanden, das später zerstört wird und eine Verlängerung der NWZ bewirkt. Physostigmin ver-

zögert also die Verseifungsgeschwindigkeit des Azetylcholins. Es besteht eine Beziehung zwischen zugeführter Physostigminkonzentration und Inaktivierung der Esterase in dem Sinne, daß bei steigender Physostigminkonzentration die Inaktivierung der Esterase schneller vor sich geht und vollständiger wird. Eine Steigerung der Wirkungsintensitiät durch Physostigmin kann aber nicht erreicht werden. Pro kg Tiergewicht müssen nach Ansicht anderer Autoren 30γ Physostigmin gegeben werden, um eine Lähmung der Esterase herbeizuführen. Unsere Versuche haben ergeben, daß bei gleichzeitiger Infusion von Azetylcholin und Physostigmin schon eine geringere Physostigminmenge ausreicht, um eine verlängerte NWZ zu erzielen. Sie betrug 13,5γ/kg bei einer Dauerinfusion von 2 Minuten 36 Sekunden Infusionszeit und einer NWZ von 2 Minuten 49 Sekunden. Durch Steigerung der Physostigminkonzentration bei gleicher Infusionszeit wird die Nachwirkungszeit noch mehr verlängert.

Bei Betrachtung der Blutdruckkurve nach Absetzen der Dauerinfusion fällt auf, daß der Blutdruck zunächst ein Stück steil ansteigt, um sich dann langsam der Norm zu nähern. Danach



zu urteilen, wird nur ein bestimmter Prozentsatz der Esterase gelähmt, denn bei vollständiger Lähmung müßte sich der Blutdruck längere Zeit auf dem Senkungsniveau halten und erst später beim Nachlassen der Physostigminwirkung langsam ansteigen.

Die Versuche mit Azetylcholin und Physostigmin bestätigen die Annahme, daß auf die Zelle nur die Menge des Wirkungsmaximums einwirken kann, während die darüber hinaus noch vorhandene Azetylcholinkonzentration wohl dem Verseifungsprozeß unterworfen wird, aber wegen Blockierung der Zelle durch die Maximaldosis auf diese nicht einwirken kann. Bei Physostigminisierung muß im Augenblick des Absetzens der Dauerinfusion noch unzerstörtes Azetylcholin vorhanden sein, da die gelähmte Esterase nicht fähig ist, alles Azetylcholin sofort zu verseifen, sondern dieser Prozeß fällt in die Nachwirkungsphase und drückt sich in einer verlängerten Nachwirkungszeit aus.

Zusammenfassung.

1. Die NWZ ist bei Azetylcholindosen oberhalb des Wirkungsmaximums unabhängig von der Konzentration.

2. Durch Physostigmin findet keine vollständige, sondern nur eine partielle Lähmung der Cholinesterase statt.

Herrn Dr. Richert möchte ich für die freundliche Beratung und Unterstützung bei der Durchführung der Versuche meinen Dank aussprechen.

Literaturverzeichnis.

Abderhalden: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 3. Aufl. S. 239 ff.

Gaddun: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe 1937. S. 48 ff.

Galehr und Plattner: Über das Schicksal des Azethylcholins im Blute. I. und II. Mitteilung. Pflügers Archiv, Band 218. S. 488.

Riesser: Beiträge zur Kenntnis des Azetylcholins. Arch. f. exper. Path. Band 161. S. 34.

— Schrifttum zur Physiologie und Pharmakologie des Azetylcholins. Arch. f. exper. Path. Band 161. S. 52.

Minz: Pharmakologische Untersuchungen am Blutegelpräparat, zugleich eine Methode zum biologischen Nachweis von Azetylcholin bei Anwesenheit anderer pharmakologisch wirksamer körpereigner Stoffe. Arch. f. exper. Path. Band 168. S. 292.

Zinnitz und Gremels: Über den Potentialwirkungscharakter des Azetylcholins. Arch. f. exper. Path. Band 179. S. 229.

Straub und Scholz: Versuche über den Vagusstoff. Arch. f. exper. Path. Band 182. S. 331.

Zinnitz: Azetylcholin und Physostigmin. Arch. f. exper. Path. Band 182. S. 340.

— Beziehung von Vaguswirkung und Blutdruck über den Wirkungsmechanismus des Azetylcholins. Arch. f. exper. Path. Band 188. S. 328.

Lebenslauf.

Am 22. September 1914 wurde als als Sohn des Justizsekretärs Otto Musehold und seiner Ehefrau Emma geb. Skole zu Berlin-Köpenick geboren. Nach 3½jährigem Besuch der 3. Volksschule kam ich Ostern 1924 auf das Körner-Reformrealgymnasium zu Köpenick, an dem ich am 28. Februar 1933 die Reifeprüfung bestand. Vom 2. Mai 1933 bis zum 30. Juni 1938 besuchte ich die Vorlesungen der medizinischen Fakultät der Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin. Am 18. Oktober 1935 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und am 17. Dezember 1938 das medizinische Staatsexamen. Vom 21. Dezember 1938 bis zum 31. Juli 1939 war ich als Medizinalpraktikant an der Ersten Medizinischen Klinik der Charité und vom 1. August bis zum 27. August 1939 an der Universitäts-Frauenklinik tätig.

Walter Musehold.